

REC'D 15 JAN 2003

WIPO PCT

대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 :
Application Number

10-2002-0051511
PATENT-2002-0051511

출원년월일 :
Date of Application

2002년 08월 29일
AUG 29, 2002

출원인 :
Applicant(s)

주식회사 비티진
BT GIN, INC

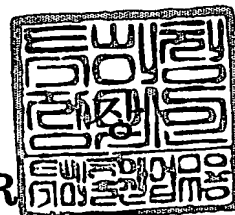
**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



2002 년 12 월 31 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.08.29
【발명의 명칭】	T F A를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민을 제조하는 방법
【발명의 영문명칭】	A preparation method of valienamine from acarbose and/or acarbose derivatives using trifluoroacetic acid
【출원인】	
【명칭】	주식회사비티진
【출원인코드】	1-2002-019833-8
【대리인】	
【명칭】	특허법인 원전
【대리인코드】	9-2000-100001-9
【지정된변리사】	이택순 , 강성혜
【포괄위임등록번호】	2002-038513-0
【발명자】	
【성명】	허을
【출원인코드】	4-2002-019835-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	오진환
【성명의 영문표기】	OH, Jin Hwan
【주민등록번호】	710309-1462125
【우편번호】	305-755
【주소】	대전광역시 유성구 어은동 99 한빛아파트 126-1101
【국적】	KR
【우선권주장】	
【출원국명】	KR
【출원종류】	특허
【출원번호】	10-2002-0035683
【출원일자】	2002.06.25
【증명서류】	첨부
【심사청구】	청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인
특허법인 원전 (인)

【수수료】

【기본출원료】

15 면 29,000 원

【가산출원료】

0 면 0 원

【우선권주장료】

1 건 26,000 원

【심사청구료】

5 항 269,000 원

【합계】

324,000 원

【감면사유】

소기업 (70%감면)

【감면후 수수료】

115,400 원

【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 소기업임을 증명하는 서류_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 유기산인 TFA(trifluoroacetic acid)를 이용하여 아카보스(acarbose) 및 /또는 아카보스 유도체(acarbose derivatives)로부터 발리엔아민(valienamine)을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 본 발명은 강력한 알파글루코시다제(α -glucosidase) 억제제이며 제2형 당뇨병 치료제로 사용되는 보글리보스(voglibose)를 제조할 수 있는 핵심 전구체인 발리엔아민을 아카보스 및/또는 그 유도체로부터 TFA를 이용하여 선택적 가수분해를 통해 대량 생산할 수 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

발리엔아민(valienamine), 아카보스(acarbose), 아카보스 유도체(acarbose derivatives), 트리플루오르아세트에시드(trifluoroacetic acid, TFA)

【명세서】

【발명의 명칭】

T F A를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민을 제조하는 방법{A preparation method of valienamine from acarbose and/or acarbose derivatives using trifluoroacetic acid}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 TFA를 이용하여 아카보스로부터 제조한 발리엔아민의 수소 핵자기공명 스펙트럼이다.

도 2는 TFA를 이용하여 아카보스로부터 제조한 발리엔아민의 탄소 핵자기공명 스펙트럼이다.

도 3은 TFA를 이용하여 아카보스 유도체로부터 제조한 발리엔아민의 수소 핵자기공명 스펙트럼이다.

도 4는 TFA를 이용하여 아카보스 유도체로부터 제조한 발리엔아민의 탄소 핵자기공명 스펙트럼이다.

도 5는 TFA를 이용하여 아카보스 유도체로부터 제조한 발리엔아민의 Bio-LC(HPLC)의 데이터이다.

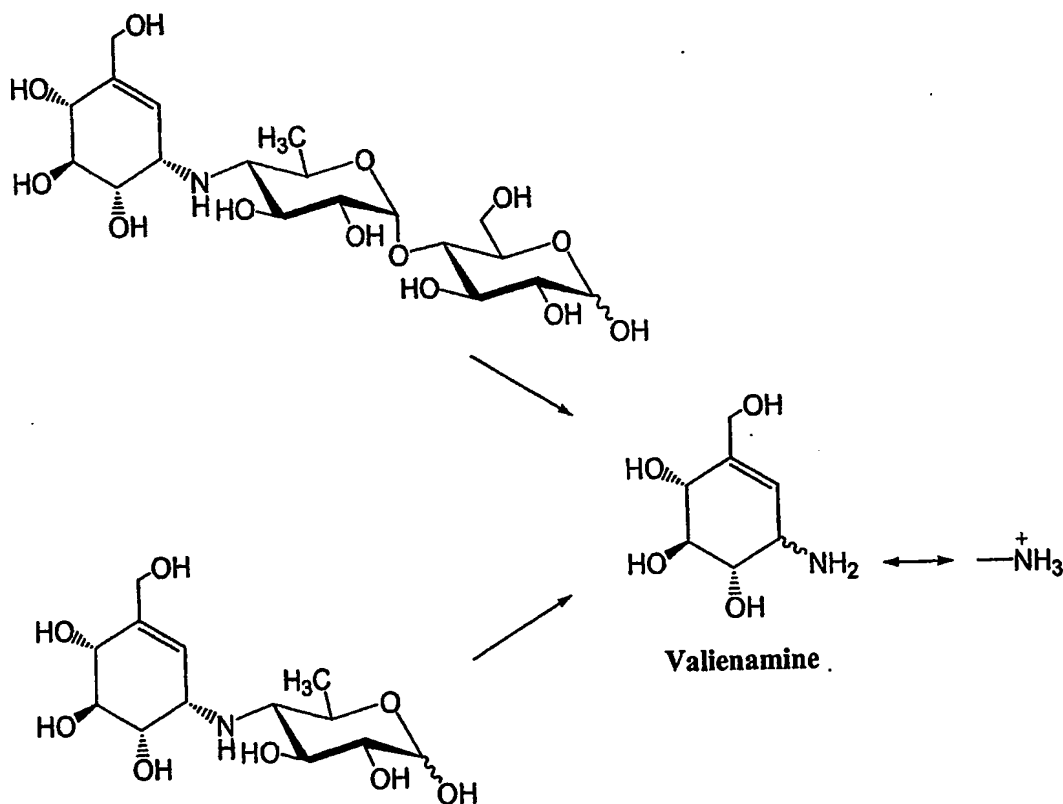
【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

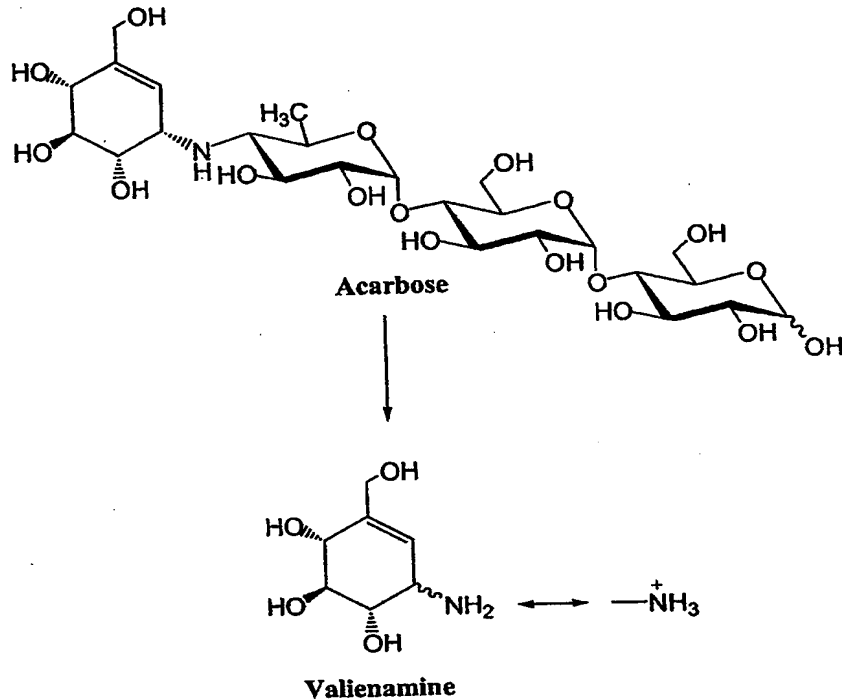
【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<6> 본 발명은 TFA를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체를 기질로 하여 발리엔아민을 제조하는 방법에 대한 것으로, 좀더 자세히는 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 TFA를 이용하여 선택적인 가수분해를 통해 당뇨병 치료제의 핵심 전구체인 발리엔아민을 대량 생산한 뒤 부산물인 일당, 이당 및 삼당을 제거함으로써 상당히 높은 전환율로 제조하는 방법에 관한 것이다.

<7> 【반응식 1】



<8> 【반응식 2】



- <9> 발리엔아민의 상업적 생산에 관한 종래 기술은 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 미생물 발효를 이용한 발리엔아민의 직접 생산과 발리엔아민의 유도체인 발리다마이신을 또 다른 미생물을 이용해 분해시켜서 생산하는 방법이 그것이다.
- <10> 발리다마이신 유도체들은 기본적으로 발리엔아민 모이에티(moiety)를 포함하고 있고 발리다민(validamine) 또는 발리올아민(valiolamine)과 선택적으로 결합한다. 또한, 발리다마이신 유도체들은 잇따라 글루코스(glucose)가 결합된 슈도트리사카라이드(pseudotrisaccharide) 화합물이다.
- <11> 발리다마이신 혼합물은 동아시아의 벼 경작지에서 살균제로 사용되는 항생물질로서, 토양 미생물인 스트렙토마이세스 하이그로스코피쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*) 등

을 배양하여 생산되고 있는데, 이때 발리다마이신 혼합물에는 중간체인 발리엔아민이 소량 함유되어 있으며 이것을 컬럼(column)을 통해 분리하여 얻는다.

<12> 발리엔아민을 제조하는 또 다른 방법으로는 미생물 사카로필룸(*F. saccharophilum*) 등을 이용해 발리다마이신을 분해하는 방법으로서, 발리다마이신을 기질 또는 배지로 사용해 미생물 혼합액에 첨가한 후 일정 시간 배양하여 미생물로 하여금 발리다마이신 분해를 유도하여 이것을 컬럼(column)을 통해 분리하여 얻는 방법이 있다. 두 가지 방법 모두 미생물 발효에 시간이 많이 걸리며 수율 또한 높지 않다는 단점이 있다.

<13> 발리엔아민 모이어티(moiety)를 갖고 있는 또 다른 화합물은 아카보스이다. 아카보스는 토양 미생물의 일종인 악티노플라네스(*Actinoplanes sp.*)의 2차 대사산물로부터 얻어지며 알파 아밀라제(α -amylase)를 저해하는 역할을 하고 있어 현재 당뇨병 치료제로서 사용되고 있다. 하지만 아카보스를 원료로 하여 발리엔아민을 상업적 또는 대량으로 생산하는 공정은 아직 알려지지 않았다.

<14> 학계에 보고되어 있는 발리엔아민의 생산 방법으로는 발리다마이신을 원료로 NBS(N-Bromosuccinimide)를 사용해 발리엔아민을 제조하는 화학적 방법이 있으나 용매로서 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 사용하기 때문에 정제과정에서 어려울 뿐만 아니라 수율이 낮고, 부산물 정제에서 어려움이 있다. 또한 황산을 비롯해 염산, 아세트산 등의 유기산을 이용한 발리엔아민 제조방법에 대한 연구가 있었지만, 말당의 당 하나만을 가수분해하는 정도로 한정되기 때문에 실효를 거두지 못했으며, 또한 유기합성을 통한 발리엔아민 생산을 시도했지만 정제과정과 유기합성 공정의 비효율성으로 인해 생산이 담보 상태에 있다.

- <15> 최근에 활발히 진행되고 있는 발리엔아민 제조방법으로서 효소에 의한 전합성이 있다. 이는 균주에 의해 발현되는 발리엔아민 합성과 관련된 효소들을 찾아내어 값싼 기질을 사용해 발리엔아민을 제조하는 방법이다. 하지만 유전자의 탐색에 따른 발현 유무와 활성정도 등 여러 가지 난관이 있어 현재는 생산이 어려운 상태이다.
- <16> 상기에 언급한 바와 같이 정제 효소나 화학약품을 비롯한 인비트로(*in vitro*) 상에서의 발리엔아민의 제조는 아직 상업화가 되어 있지 않은 상태이기 때문에 지금까지의 발리엔아민은 주로 균주 슈도모나스 데니트리피칸스(*Pseudomonas denitrificans*), 플라보박테리움 사카로필룸(*Flavobacterium saccharophilum*)을 이용하여 발리독실아민과 발리다마이신을 가수분해하여 생합성해왔다. 일본특허 57054593호에는 미생물을 이용하여 발리독실아민과 발리다마이신을 전환시키는 반응이 개시되어 있으며, 반응조건 20-45℃, pH 5-8, 24-200시간 동안 발리독실아민 및 발리다마이신의 혼합물 1-5중량%를 반응시켜 플라보박테리움 사카로필룸(*Flavobacterium saccharophilum*)을 이용해 발리엔아민을 생합성하는 방법에 관한 것이다.
- <17> 발리엔아민은 말테이즈(maltase)와 수크레이즈(sucrase) 억제효과가 있으며 바실러스 종(*Bacillus species*)에 대한 항균작용이 있는 것으로 알려졌다. 또한 분자내 원자의 배치가 알파-D-글루코스와 비슷하다. 이는 발리엔아민의 알파글루코시다제 억제활성이 D-글루코실 양이온과 발리엔아민이 구조적으로 유사하여 발생하는 효과라고 알려져 있다. D-글루코실 양이온은 효소를 촉매로 하여 피라노사이드(pyranoside)의 가수분해 과정 동안 만들어지는 전이상태인 반의자 구조(half-chair conformation)을 형성한다.
- <18> 발리엔아민 모이에티(moiety)를 갖는 화합물로는 아카보스(acarbose) 및 그유도체를 비롯해서 발리독실아민(validoxylamine)과 발리다마이신(validamycin) 등이 있으며

이 중 아카보스는 2형 당뇨병의 억제제로 널리 쓰이고 있다. 아카보스 및 아카보스 유도체는 다른 두 화합물(발리독실아민과 발리다마이신)과는 다른 구조를 갖고 있고 생성과정도 상당히 다른 것으로 알려져 있다.

<19> 상기의 아카보스 및 그 유도체, 발리독실아민, 발리다마이신의 발리엔아민 모이어티를 포함하는 화합물들은 잠재적으로 발리엔아민의 원료이며, 모두 각각 다른 균주에 의해 발효과정을 통해 생산된다. 이 중 아카보스는 독일의 제약회사인 바이엘사를 비롯한 중국과 일본의 제약회사들을 통해 전 세계에 당뇨병 치료제로서 유통되고 있으며, 발리다마이신보다는 비싸지만 순수원료의 확보가 쉽고 그에 따른 용이한 분리공정의 장점이 있기 때문에 발리엔아민의 원료로서 적당하다. 또한 아카보스 유도체를 사용하면 아카보스를 원료로 했을 때의 잘린 당으로부터의 피그먼트(pigment)로 인하여 정제가 어려워 지는 문제를 좀더 쉽게 해결할 수 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<20> 따라서 본 발명의 목적은 TFA를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 선택적인 가수분해를 통해 발리엔아민을 대량 생산한 후, 부산물인 일당, 이당 및 삼당 등을 제거함으로써 상당히 높은 전환율로 발리엔아민을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

- <21> 본 발명은 TFA(trifluoroacetic acid)를 이용하여 아카보스(acarbose) 및/또는 아카보스 유도체(acarbose derivatives)로부터 발리엔아민(valienamine)을 제조하는 방법을 제공한다.
- <22> 또한, 본 발명은 반응 기질로 최종농도 0.2-10% 아카보스 및/또는 아카보스 유도체를 사용하는 것을 특징으로 하는 TFA를 이용한 아카보스로 및/또는 아카보스 유도체부터 발리엔아민의 제조방법을 제공한다.
- <23> 뿐만 아니라, 본 발명은 반응 용매로 10-60% TFA 수용액을 사용하는 것을 특징으로 하는 TFA를 이용한 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민의 제조방법을 제공한다.
- <24> 아카보스 및/또는 그의 유도체의 최종 농도가 0.2% 미만이거나 TFA가 60%를 초과하는 경우에는 제조 단가가 상승하고, 반대로, 아카보스 및/또는 아카보스 유도체의 최종 농도가 10%를 초과하거나 TFA가 10% 미만인 되는 경우에는 수율이 낮아진다.
- <25> 나아가, 본 발명은 80-120℃에서 1-24시간 반응시키거나, 특히 반응 시간을 1시간으로 줄이고 수율을 96%까지 높일 수 있는 고온, 고압의 오토클레이브(autoclave)를 사용하는 것을 특징으로 하는 TFA를 이용한 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민의 제조방법을 제공한다.
- <26> 본 발명의 방법에 의하여 제조된 발리엔 아민은 탄소 고리에 있는 아민기가 NH_2 또는 NH^+_3 의 구조로 수득될 수 있다.

<27> 또한, 본 발명에 있어서 아카보스 유도체라함은 탄소 고리에 당이 하나, 둘, 넷, 다섯 또는 그 이상 결합된 화합물을 말하는 것이며, 통상은 당이 하나 또는 두개인 유도체를 의미한다.

<28> 본 발명은 현재 당뇨병 치료제로 사용되고 있는 슈도테트라사카라이드인 아카보스 및/또는 그 유도체로부터 유기산인 TFA를 사용하여 자체가 알파 글루코시다제 억제제이며 더욱 강력한 억제제인 보글리보스를 제조할 수 있는 핵심 전구체인 발리엔아민을 대량 생산하는 것을 포함하는 단계들로 구성된다.

<29> 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구체적인 구성에 대하여 상세히 설명한다. 그러나, 본 발명의 권리범위는 이들 실시예의 기재에만 한정되는 것은 아니다.

<30> 실시예 1: TFA를 이용한 발리엔아민의 제조방법

<31> 순수한 아카보스 10g을 10% 티에프에이 수용액에 넣어 최종농도가 5%가 되게 한 후 반응온도 100℃에서 12시간 이상 반응시킨 뒤 티에프에이와 물을 제거한 후 이를 이온교환 수지를 사용해 정제하여 2.02g의 발리엔아민을 얻었다.

<32> 실시예 2: TFA를 이용한 발리엔아민의 제조방법

<33> 순수한 아카보스 유도체(이당과 삼당) 1g을 10% 티에프에이 수용액에 넣어 최종농도가 5%가 되게 한 후 반응온도 100℃에서 12시간 이상 반응시킨 뒤 티에프에이와 물을

제거한 후 이를 이온 교환 수지를 사용해 정제하여 각각 0.45g과 0.31g의 발리엔아민을 얻었다.

<34> 실시예 3: 오토클레이브를 이용하여 TFA를 이용한 발리엔아민의 제조방법

<35> 순수한 아카보스 10g을 10% TFA 수용액에 넣어 최종농도가 5%가 되게 한 후 오토클레이브를 사용해 압력을 가하면서 반응온도 121℃에서 30분-1시간 동안 반응시킨 다음 TFA와 물을 제거한 후 이를 이온교환수지를 사용해 정제하여 2.1g의 발리엔아민을 얻었다.

<36> 실시예 4: 오토클레이브를 이용하여 TFA를 이용한 발리엔아민의 제조방법

<37> 순수한 아카보스 유도체(이당과 삼당) 1g을 10% TFA 수용액에 넣어 최종농도가 5%가 되게 한 후 오토클레이브를 사용해 압력을 가하면서 반응온도 121℃에서 30분-1시간 동안 반응시킨 다음 TFA와 물을 제거한 후 이를 이온교환수지를 사용해 정제하여 각각 0.46g과 0.30g의 발리엔아민을 얻었다.

<38> 상기 실시예 1 및 2의 반응 결과 얻어진 결과물에 대한 수소와 탄소 핵자기공명 스펙트럼은 하기와 같다.

<39> $^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O})$ δ : 3.42(1H, br s, H-1), 3.54(2H, ABq, $J=13.6\text{Hz}$, H-7), 3.94(1H, d, $J=6.79\text{Hz}$), 3.97(1H), 4.05(1H), 5.64(1H, d, $J=4.6$)

<40> ^{13}C -NMR(D_2O) δ : 48.9(C-1), 61.2(C-7), 69.7(C-2), 71.7(C-4), 72.0(C-3),
123.4(C-6), 139.9(C-5)

【발명의 효과】

- <41> 본 발명은 아카보스를 이용하여 50~95%, 아카보스 유도체를 이용하여 70~95%의 수율로 발리엔아민을 제조할 수 있으며, 발리엔아민의 아민 모이어티(—moiety)와 인접한 당의 α -결합만을 가수분해하기 때문에 부산물로 각각 일, 이, 삼당만이 생성된다. 이런 장점으로 인해 정제가 간단하여 순도가 높은 발리엔아민의 제조가 가능하며, 피그먼트의 양도 줄어 들 수 있다.
- <42> 또한, 본 발명은 당뇨병 치료제로 세계시장(일본, 중국, 한국 등)에 널리 판매되고 있는 보글리보스의 생산이 용이해져 대량생산에 따른 단가하락에 큰 기여를 들 수 있으며 좀더 뛰어난 약리활성을 갖거나 다른 종류의 병에 활용될 수 있는 발리엔아민 유도체의 제조에 공헌할 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

TFA(trifluoroacetic acid)를 이용하여 아카보스(acarbose) 및/또는 아카보스 유도체(acarbose dreivative)로부터 발리엔아민(valienamine)을 제조하는 방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 반응 기질로 아카보스 및/또는 아카보스 유도체를 최종농도가 0.2-10% 되도록 사용하는 것을 특징으로 하는, TFA를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민을 제조하는 방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, TFA는 10-60%를 사용하는 것을 특징으로 하는 TFA를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민을 제조하는 방법.

【청구항 4】

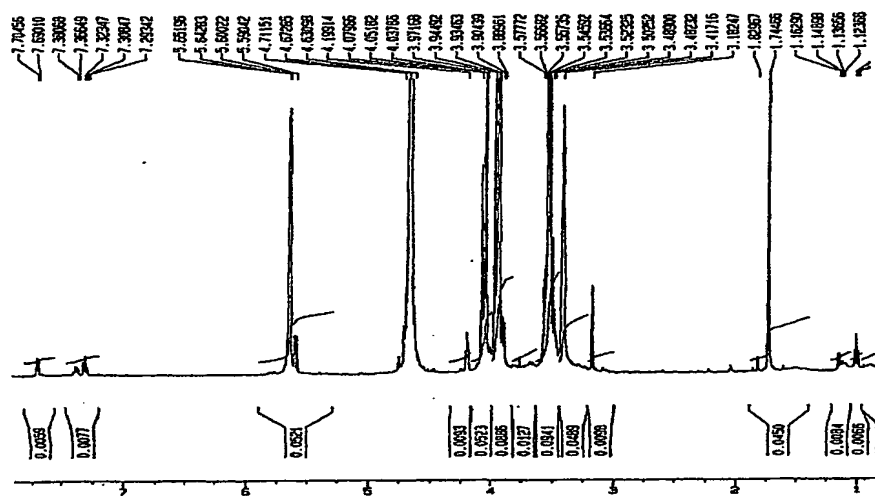
제1항에 있어서, 반응은 80-120℃에서 1-24시간 진행시키는 것을 특징으로 하는, TFA를 이용하여 아카보스 및/또는 아카보스 유도체로부터 발리엔아민을 제조하는 방법.

【청구항 5】

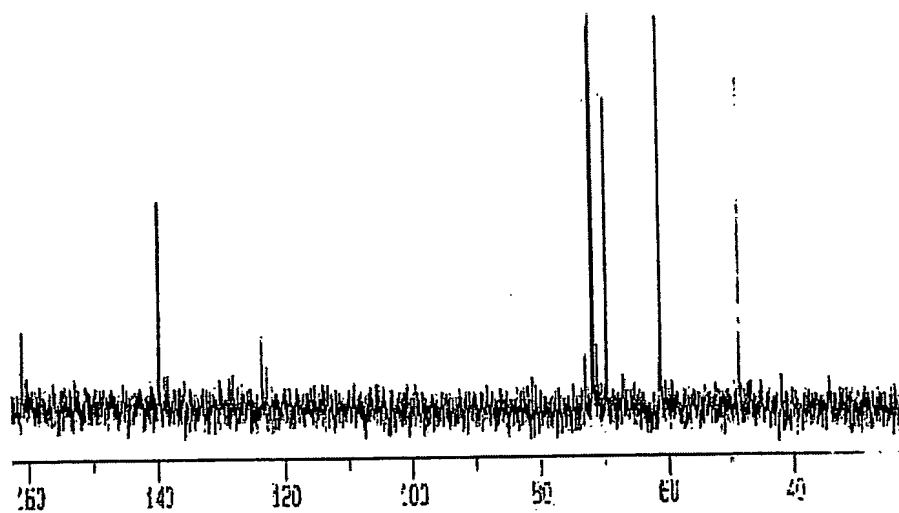
제1항에 있어서, 고온, 고압으로 반응 시간을 줄이고 수율을 높이기 위해 오토클레이브(autoclave)를 사용하는 것을 특징으로 하는, TFA를 이용하여 아카보스로 및/또는 아카보스 유도체부터 발리엔아민을 제조하는 방법.

【도면】

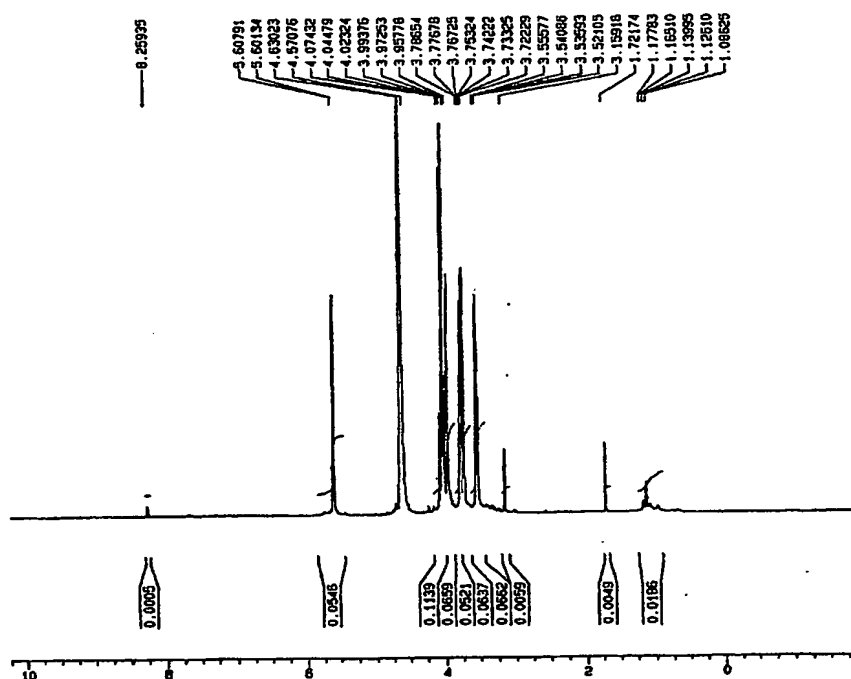
【도 1】



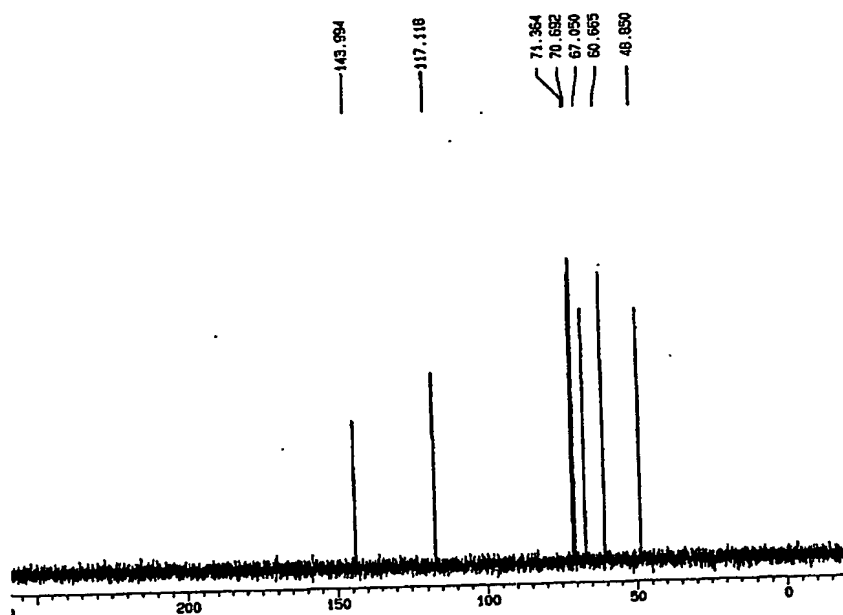
【도 2】



【도 3】



【도 4】



1020020051511

출력 일자: 2003/1/8

【도 5】

